Aus der I. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin-Neukölln
(Ärztlicher Direktor: Professor Dr. med. K. Holldack)
und aus dem Institut für Haematologie der GSF, Assoziation mit
EURATOM, München
(Leiter: Professor Dr. med. W. Stich)

Verteilung und Gehalt von Eisengranula in Sideroblasten und Siderozyten in der Knochenmarkkultur bei der Berliner-Blau-Reaktion

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der ehemaligen Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Paul Kneifel
aus Löwenstadt (Brzeziny), Polen

1970

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546513_0013

Aus der I. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin-Neukölln
(Ärztlicher Direktor: Professor Dr. med. K. Holldack)
und aus dem Institut für Haematologie der GSF, Assoziation mit
EURATOM, München
(Leiter: Professor Dr. med. W. Stich)

Verteilung und Gehalt von Eisengranula in Sideroblasten und Siderozyten in der Knochenmarkkultur bei der Berliner-Blau-Reaktion

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der ehemaligen Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Paul Kneifel

aus Löwenstadt (Brzeziny), Polen

Ehem.Dekan:	Professor Dr. med. Herbert L a x
Referent:	Professor Dr. med. Irene B o l l
Korreferent:	Professor Dr. med. Horst B r ü c h e r

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der ehem. Medizinischen
Fakultät der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 9.Oktober 1970

Aus der I. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin-Neukölln
(Ärztlicher Direktor: Professor Dr. med. K. Holldack)
und aus dem Institut für Haematologie der GSF, Assoziation mit
EURATOM, München
(Leiter: Professor Dr. med. W. Stich)

Verteilung und Gehalt von Eisengranula in Sideroblasten und Siderozyten in der Knochenmarkkultur bei der Berliner-Blau-Reaktion

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der ehemaligen Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Paul Kneifel

aus Löwenstadt (Brzeziny), Polen

Ehem.Dekan:	Professor Dr. med. Herbert L a x
Referent:	Professor Dr. med. Irene B o l l
Korreferent:	Professor Dr. med. Horst B r ü c h e r

Gedruckt mit Genehmigung der ehem. Medizinischen
Fakultät der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 9.Oktober 1970

Inhaltsverzeichnis

	Seite:
Einleitung	3
Material und Methode	7
Ergebnisse	14
Diskussion der Ergebnisse	39
Zusammenfassung	42
Literaturverzeichnis	43

Einleitung

Anfang des achtzehnten Jahrhunderts entdeckte der Berliner Chemiker Diesbach die Berliner-Blau-Reaktion. Er schuf damit die Grundlage zum chemischen Nachweis des dreiwertigen Eisens.
Davon ausgehend, doch unter Modifizierung und Verfeinerung der Färbetechnik, bediente sich der junge Zweig der Hämatologie dieser Färbemethode, um Eisen in Blut- und Knochenmarkausstrichen zur Darstellung zu bringen.
Im Laufe der Zeit kamen eine Reihe weiterer Verfahren hinzu: eine von Koszewski abgewandelte Turnbull-Blau-Färbung, eine Eisenfärbung mit Kaliumthiozyanat und αα'-dipyridil(Case), eine Eisensulfidmethode (Quincke 1868) und andere.
Während die Turnbull-Blau-Reaktion sich auf Grund vergleichender Untersuchungen, die von Huber (25) durchgeführt wurden, der Berliner-Blau-Reaktion unterlegen zeigte, wich die Kaliumthiozyanat-Färbung in ihren Ergebnissen beträchtlich von der Berliner-Blau-Reaktion ab, da die mit ihr zur Darstellung gebrachten siderophilen Granula andere waren (6). Zweifelsohne hat sich bisher als einfachste und wichtigste Methode zum histochemischen Nachweis von dreiwertigem Eisen die Berliner-Blau-Reaktion bewährt. Sie zählt zu den empfindlichsten mikrochemischen Reaktionen, erfaßt noch siderophile Partikel bis zu einer Größe von 0,2 µm (3) und ist noch spezifisch bei einer Grenzkonzentration zwischen 1 : 500.000 bis 1 : 1.000.000 (33). Die Bildung des Berliner Blau erfolgt durch die Vereinigung von Eisen-III-Ionen mit Ferrocyan-Ionen und stellt keine Ionen-, sondern eine Zeit- bzw. Gleichgewichtsreaktion dar.

Beim Gesunden weisen 0 - 0,3 % der Erythrozyten (1, 2, 6, 11, 14) und 20 bis 60 % aller Erythroblasten (31) nach der Färbung zart blaue Körnchen im Zytoplasma auf. Ihre Zahl schwankt zwischen 1 und 20 bei den Erythrozyten (11)

und 1 bis 4 bei den Erythroblasten (33). Die Granula sind rund und 0,2 bis 0,4 µm groß. In den Erythroblasten liegen sie im Zytoplasma meist wahllos verstreut. Eine nähere Beziehung zum Kern besteht nicht.

Lange Zeit war man sich über die Bedeutung des Auftretens von Eiseneinschlüssen im unklaren. Pappenheimer, Thompson, Parker und Smith sahen die Granula als Parasiten der Blutkörperchen an (32). Case deutete sie als Zerfallsprodukte des Hämoglobins alternder Zellen. Heute weiß man, daß die Eiseneinschlüsse nicht ausgereifter Zellen als Vorrat für die Hämoglobinsynthese dienen (21, 26, 31); denn handelte es sich um Abbauprodukte, so müßten die Erythrozyten mehr Eisengranula aufweisen als ihre Vorstufen. Das Verhältnis ist aber umgekehrt. -

Beim Kranken tritt das Eisen in den Sideroblasten in drei Formen auf, wie elektronenoptische Untersuchungen von Bessis und auch Merker, Mölbert und Neidhardt (21) ergaben:

1. Als freies Ferritin, erkennbar am typischen Molekülbau des Ferritins, das nach Bessis (3) einen Oktaeder darstellt, dessen Sechseckpunkte aus einer Anhäufung von 300 Eisenatomen bestehen und einen Durchmesser von 15 Å haben. Dieses freie Ferritin ist diffus im Zytoplasma verteilt.
2. In Form sogenannter Siderosomen, das sind Anhäufungen von Ferritinmolekülen teils mit, teils ohne äußere Membran.
3. Neben freiem Ferritin und Siderosomen, die auch bei normalen Sideroblasten vorkommen, finden sich außerdem bei pathologisch veränderten Sideroblasten Eiseneinlagerungen in den Mitochondrien als große Klumpen. Nach Bessis (3) bestehen diese

zum Teil aus Ferritin, zum Teil handelt es sich um zusammengesintertes Mizelleneisen (Micelles ferrugineuses).
Hayhoe und Quaglino (20) wie auch Bowman (10) wiesen auf die Eigenart der pathologischen Sideroblasten hin, manchmal ihre 3 bis 4 µm großen, grobkernigen Granula ringförmig um den Zellkern anzuordnen oder ihn ganz zu bedecken, was andere Hämatologen beobachteten (7, 17, 24).

Von einigen Autoren wurde empfohlen, bei Krankheiten, die mit einer Verminderung oder Vermehrung der Sideroblasten einhergehen, neben dem Nichthämoglobineisen des Knochenmarks das Serumeisen und die Eisenbindungskapazität zu bestimmen, um Fehler zu vermeiden (5).
Eine zahlenmäßige Verminderung der Sideroblasten findet man bei akutem rheumatischen Fieber, Ascorbinsäuremangel und Eisenmangelanämien; keine Verminderung bei Anämien durch Knochenmarkaplasie, Nierenerkrankungen und Infekte (19, 26, 30).
Eine Vermehrung der Granulazahl oder -größe in den Sideroblasten ist bei den sideroachrestischen Anämien, Panmyelopathien, der Thalasämie und Bleivergiftung zu beobachten, bei denen der Einbau des Eisens in das Protoporphyringerüst unterbleibt, was eine massive Eisenanstauung zur Folge hat (21).

Für die Klinik hat diese Erkenntnis insofern große Bedeutung, als aus einer Vermehrung der Sideroblasten auf eine Störung der Porphyrin- bzw. Hämsynthese geschlossen werden kann. -

Ein hyperplastisches Knochenmark - oft im Gefolge hämolytischer Anämien - bewirkt, daß die Siderozyten im Knochenmark stark vermehrt sind und bis auf Werte von 40 % (Heilmeyer) ansteigen, sich aber in der Peripherie im Normalbereich befinden, dessen obere Grenze bei 0,3 %

liegt. Wie ist dieser steile Gradient in der Abnahme der Eisengranula zu erklären?
Douglas und Dacie (19) fiel 1953 erstmals auf, daß bei Splenektomierten der Siderozytenanteil im peripheren Blutstrom stark erhöht war, und zwar unabhängig von der Ursache, die zur Entfernung der Milz führte. Eine von Crosby (14) angestellte Versuchsanordnung vermochte schlüssig zu beweisen, daß die Milz imstande sei, die Eisengranula aus den Erythrozyten zu entfernen, ohne dabei die Zellen selbst zu zerstören. Den Vorgang selbst klärte Jung (21) anhand elektronenoptischer Bilder auf. Diese zeigten, daß die eisenhaltigen Erythrozyten bei der Wanderung durch die Spalten der Milzsinuswand fadendünn ausgezogen und dabei ihre Einschlußkörperchen herausgequetscht werden.
Darüber hinaus könnte eine restliche Hämoglobinsynthese in den kernlosen Erythrozyten einen weiteren Verlust siderophilen Eisens herbeiführen. Die letzte Hypothese wird aber von Brüschke bezweifelt und von Heilmeyer für wenig wahrscheinlich gehalten (11, 21).

Im Blut Neugeborener findet man am ersten Lebenstag zwischen 3 und 17 % Siderozyten, die nach 3 bis 4 Tagen völlig aus dem Blut verschwinden (12). Dieses Absinken der Siderozytenzahl post partum führt Brüschke auf eine Umstellung der Erythropoese zurück. Ähnliche Werte wurden auch von Bilger und Tetzner bei ihren Untersuchungen erhoben (6).

In der vorliegenden Arbeit wird die quantitative Verteilung von Eisengranula unterschiedlicher Stärkegrade in Siderozyten und Sideroblasten des menschlichen Knochenmarks unter verschiedenen pathologischen Bedingungen im Originalausstrich und nach 24-, 48- und 72-stündiger Züchtungsdauer untersucht, in der Hoffnung, dadurch einen Einblick in die Kinetik sideroachrestischer und anderer Anämien zu gewinnen.

Material und Methode

Für die Versuche wurde aus dem Sternum der Patienten etwas Knochenmark entnommen. Das so gewonnene Material wurde teils sofort ausgestrichen, teils für die Kultivierung reserviert.
Die Knochenmarkkulturen wurden nach einem Verfahren nach Boll (8) angelegt, das aus einer Abwandlung der Kultivierungstechnik nach Carell hervorgeht:
Als Nährboden dient ein Koagulum, bestehend aus fünf Teilen Nativplasma des betreffenden Patienten, vier Teilen Hank'scher Lösung und einem Teil Corhormon.
Auf dieses werden in einem Hohlschliffobjektträger Markbröckchen gesetzt, mit einem Serumtröpfchen überschichtet und im Brutschrank bei 37° C gezüchtet.
Nach einer Züchtungsdauer von 24, 48 und 72 Stunden wurden Proben der Knochenmarkkultur entnommen und auf einem Objektträger ausgestrichen. Bei einem Teil der Versuchsreihe wurde die Zusammensetzung der Knochenmarkkultur verändert, indem der Glukosezusatz der Hank'schen Nährlösung von 1 ‰ auf 5 ‰ angehoben wurde.
Die zur Färbung der Präparate von uns angewandte Eisenfärbung beruht auf der Berliner-Blau-Reaktion und lehnt sich der Methode von Bowman an (1o).
Sie unterscheidet sich von ihr durch Konzentration und Einwirkdauer der Färbekomponenten.

Bevor wir uns für die nachstehende Methode entschieden, führten wir eine Serie von Versuchsfärbungen durch, um durch Variation der Färbungszeit sowie der Konzentration der Färbereagenzien eine leicht reproduzierbare und optimale Färbung zu erhalten.

Der Ablauf der von uns gewählten Färbung in seinen einzelnen Abschnitten:

1) Lufttrocknen des Ausstrichs	mindestens 48 Std.
2) Fixieren mit Methanol	1o Min.
3) Mit aqua dest. abspülen	
4) Färbung mit einer Mischung aus HCl und Kaliumferrocyanidlösung	4o Min.
5) Mit aqua dest. abspülen	
6) Kernfärbung mit Kernechtrot	45 Min.
7) Mit aqua dest. abspülen	
8) Trocknen lassen	

Um das Gelingen unserer Eisenfärbung zu sichern, achteten wir strengstens darauf, absolut eisenfreie Reagenzien zu verwenden. Für die Färbung wurden nur Geräte aus Glas und Hornstoffen benutzt.

Zu Punkt 1:

Das auf dem Objekträger ausgestrichene Material ließen wir zwei Tage in staubfreier Atmosphäre bei Zimmertemperatur trocknen, bevor wir es anfärbten. Zu viel Feuchtigkeit im Knochenmarkausstrich hat häufig zur Folge, daß die Haftfestigkeit am Objektträger ungenügend ist und sich die Zellen beim Färbevorgang ablösen.

Zu Punkt 4:

Die Färbung der Ausstriche erfolgte mit 2 %iger HCl und 2 %iger Kaliumferrocyanidlösung, die im Verhältnis 1:1 gemischt wurden. Die Farbstoffmischung wurde zur Färbung immer frisch bereitet, da der anfangs hellgelbliche Farbton des Ferrocyanids nach einigen Tagen ins Hellblaue, später ins Blaue umschlägt. Verantwortlich dafür ist die Salzsäure, deren Aufgabe darin besteht, das in den Siderozyten und Sideroblasten in Form des Ferritins vorhandene Eisen aus seiner organischen Bindung freizusetzen. Höhere Farbstoffmischungen (bis 2o %)

in unseren Testreihen, wie sie in der Literatur empfohlen werden, führten wegen der starken Artefaktbildung zu unbefriedigenden Ergebnissen.

Zu Punkt 6:

Zur Gegenfärbung bereiteten wir eine Farbstofflösung aus den folgenden Reagenzien:

1) 0,2 g Kernechtrot
2) 5,o g Aluminiumsulfat

Beides wird in 100 ml aqua dest. aufgelöst und über einem Bunsenbrenner bis zum Aufkochen erhitzt. Danach läßt man die Lösung abkühlen und filtriert sie anschließend.
Der Farbstoff Kernechtrot zeigt nach einigen Monaten die Tendenz auszufallen; deshalb haben wir ihn in kürzeren Abständen frisch bereitet und die Lösung vor jedem Gebrauch filtriert.
Bei der Färbung wurde stets so verfahren, daß der gesamte Satz, d.h. das Sofortpräparat und die 24-, 48- und 72-Stunden-Kultur-Präparate gemeinsam in einem Durchgang gefärbt wurden. Dieser Arbeitsgang schaffte gleiche Färbebedingungen für alle vier Ausstriche einer Versuchsserie. Fehlerquellen bei der Bewertung der Präparate auf Grund eines in seinen einzelnen Schritten nicht identischen Färbeverfahrens konnten so ausgeschaltet werden, die sonst vielleicht zu einer Fehldeutung der Ergebnisse hätten führen können.

Es wurde versucht, pro Präparat 1000 rote Zellen zu differenzieren. Doch gelang das nicht immer. Besonders große Schwierigkeiten bereiteten in dieser Hinsicht die Kulturpräparate von 48 und 72 Stunden Züchtungsdauer, was in der relativ geringen Zellzahl einiger Präparate zum Ausdruck kommt. Überall da, wo zu wenig Zellen ausgezählt wurden und sich folglich in

der Bewertung eine entsprechend hohe Fehlerquote ergeben hätte, wurde auf die Auswertung verzichtet.

Die Auszählung erfolgte mit einem binokularen Mikroskop der Firma Leitz, Wetzlar, einem Ölimmersions-Objektiv 95fach, Aperturblende 1,32 und 12fachen Okularen. Mit Hilfe dieses optischen Systems konnte auf das eintausendzweihundertfache vergrößert werden.

Da wir bestrebt waren, möglichst viele Zellen der roten Reihe zu erfassen, haben wir alle Zellen eines Präparates systematisch ausgezählt. Die Zuordnung der Zellen der Erythropoese in ein von uns gewähltes Schema erwies sich als notwendig, weil eine Abgrenzung der polychromatischen gegenüber den basophilen und den orthochromatischen Sideroblasten wegen der gleichförmig rötlichen Cytoplasmafärbung durch die Berliner-Blau-Reaktion schlecht möglich war. Wir entschlossen uns daher, entsprechend der Kerngröße eine Einteilung vorzunehmen und die großen polychromatischen Erythroblasten den basophilen, die kleinen den orthochromatischen Erythroblasten zuzurechnen.

Abweichend von der Boll'schen Einteilung ergab sich folgende Klassifizierung:

Proerythroblast	= Proerythroblast
Basophiler Erythroblast relativ unreifer Polychrom. Erythroblast	= Grosser Erythroblast
relativ reifer Orthochrom. Erythroblast	= Kleiner Erythroblast
Reifer Erythroblast	= Reifer Erythroblast

Da die Eisengranula in den Sideroblasten und Siderozyten in wechselnder Menge und Größe vorkommen, haben wir sie entsprechend ihrem Eisengehalt in drei Gruppen unter-

teilt und in einer vierten die Zellen ohne Eiseneinschlüsse aufgenommen (Gruppe 0).
Danach fallen in

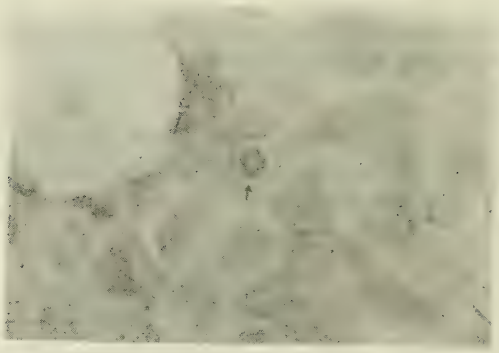
Gruppe I — Zellen mit mindestens einem kleinen, aber mit nicht mehr als 4 kleinen oder 1 - 2 großen Eisenkörnchen;

Gruppe II — Zellen mit 5 kleinen oder 2 großen und 1 kleinen bis maximal 7 kleinen oder 3 großen und 1 kleinen Eisengranulum;

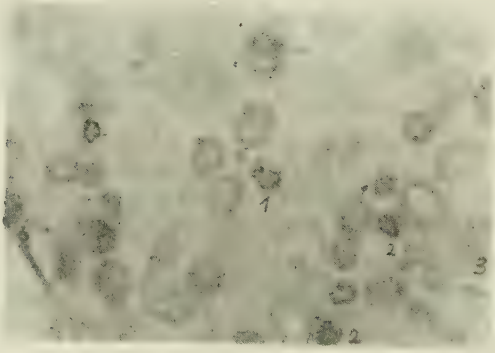
Gruppe III — Zellen mit mehr als 7 kleinen oder mehr als 3 großen und 1 kleinen Eisenkörnchen.

Bei Versuchszählungen fiel uns auf, daß man während der Zelldifferenzierung und Zuordnung der Zellen in das von uns gewählte Schema unwillkürlich dazu neigt, bei eisenreichen Ausstrichen eine andere Dreiteilung vorzunehmen als bei eisenarmen.
Waren viele Eisengranula vorhanden, so tendierte man dazu, die Größe der Eisengranula zu unterschätzen, bei Ausstrichen mit wenig Eisen neigte man dagegen zur Überschätzung ihrer Größe.

Um die sich daraus ergebenden Fehlrechnungen auszuschalten, wählten wir als Bezugssystem einige Zellen eines bestimmten Ausstrichs. Vor dem Auszählen eines Präparates prägten wir uns immer wieder erneut die Größenordnung der Eisenkörnchen ein. Dieses Verfahren bewährte sich so gut, daß wir alle Ausstriche der Versuchsserie nach dieser Norm differenzierten.



Bildmitte: Kleiner Erythroblast der Fe-Stufe II



(1) Kleiner Erythroblast der Fe-Stufe III

(2) Reife Erythroblasten der Fe-Stufe III

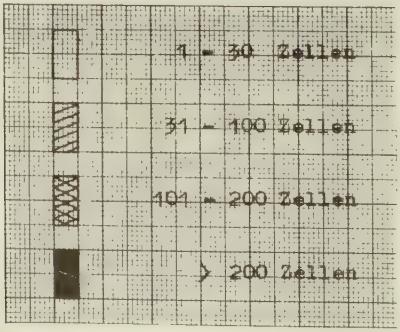
(3) Großer Erythroblast der Fe-Stufe I

Der Eisenindexwert wurde auf folgende Weise berechnet: Die Zellzahl jeder der drei Eisengehaltsstufen eines Präparates multiplizierten wir mit der dazugehörigen Gruppenzahl und addierten dann die Produkte aller Stufen. Das Ergebnis wurde mit 100 multipliziert und durch die Gesamtzellzahl dividiert. -
Der auf diese Art errechnete Eisenindex repräsentiert den Eisengehalt aller Erythroblasten eines Ausstrichpräparates und berücksichtigt, ob viele Eisengranula in wenigen Zellen oder wenige in vielen Zellen vorhanden waren. Der Eisenindex kann zwischen den Extremen Null und Dreihundert liegen, d.h. bei Null ist kein Eisen in dem entsprechenden Ausstrich nachzuweisen, oder aber bei Dreihundert ist in allen Zellen der Gruppe ein maximaler Fe-Gehalt vorhanden.

Ergebnisse

Von den insgesamt 25 Versuchsserien zu je vier oder drei Ausstrichpräparaten zeigen 14 nur im Originalausstrich, nicht aber in den Ausstrichen der Knochenmarkkulturen differenzierbare Zellen.
Bei 2 weiteren Versuchsreihen fehlen Sideroblasten und Siderozyten völlig, so daß nur die Erythroblasten der Ausstrichpräparate ausgezählt werden können; deshalb muß auf eine Auswertung verzichtet werden.
Von den restlichen 9 Fällen kommen bis auf Fall 5, der in der 72-Stunden-Kultur wegen graubrauner Niederschläge keine Zelldifferenzierung zuläßt, alle Sofort- und Kulturausstriche zur Auswertung. Die Gesamtzahl der differenzierten und nach dem vorhandenen Eisengehalt in Gruppen eingeteilten Zellen beträgt 31 040.

In den folgenden Abbildungen haben wir die Eisenindices jeder Reifungsstufe der Erythroblasten als Kolumnen dargestellt und sie entsprechend ihrer Züchtungsdauer in Gruppen zusammengefaßt. Daneben haben wir in einer gesonderten Kolumnenreihe die Mittelwerte der Eisenindices eines Ausstriches graphisch dargestellt.
Um außer dem Fe-Index, der durch die Höhe der Kolumne repräsentiert wird, zugleich die jeweilige Anzahl der Zellen zu verbildlichen, wählen wir nachstehende Schraffierungen:



Aus den Abbildungen 1 bis 7 ist zu ersehen, daß sich mit zunehmender Züchtungsdauer der Eisenindex der Ausstriche erhöht. Diese Zunahme erfolgt nicht in gleichmäßigen Stufen vom Sofort- bis zum 72-Stunden-Präparat hin. So verringert sich z.B. in Abb.2 (Ca, Leberparenchymschaden) der Fe-Index des 24-Stunden-Kulturpräparates der großen Erythroblasten gegenüber dem Sofortausstrich. Unter weiterer Kultivierung kommt es aber zu einem steilen Anstieg des Fe-Index, der im 72-Stunden-Ausstrich eine Verdoppelung gegenüber dem Originalausstrich erfährt. Ähnlich verhalten sich die Fälle

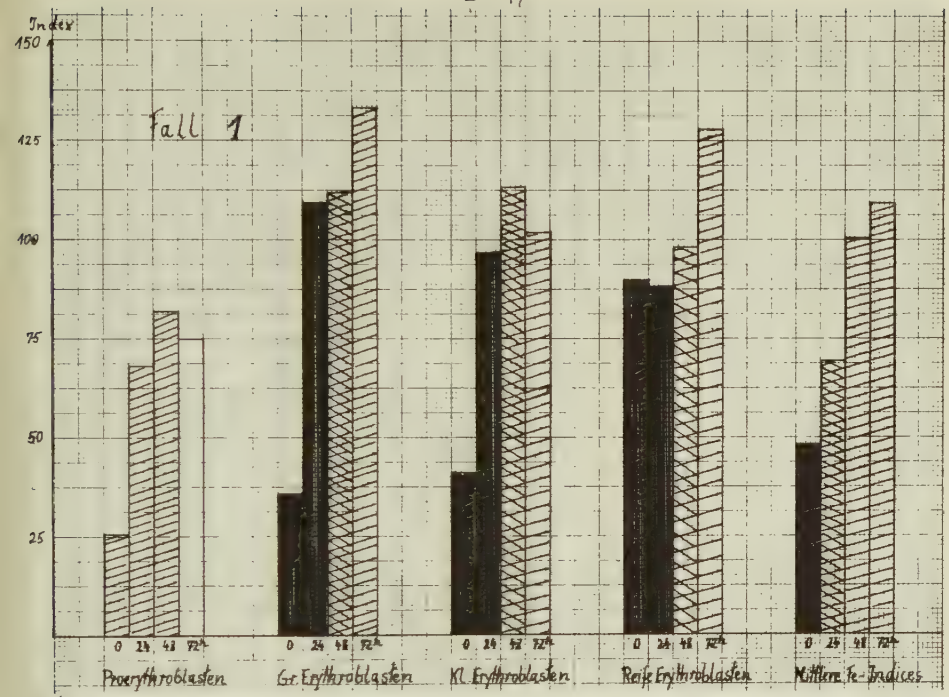
1 (Hyperchrome Anämie bei fragl.Sideroachresie)
3 (Hyperchrome Anämie bei Neoplasma)
5 (Chron. therapieresistente Pneumonie)
7 (Dekom. perniciöse Anämie)

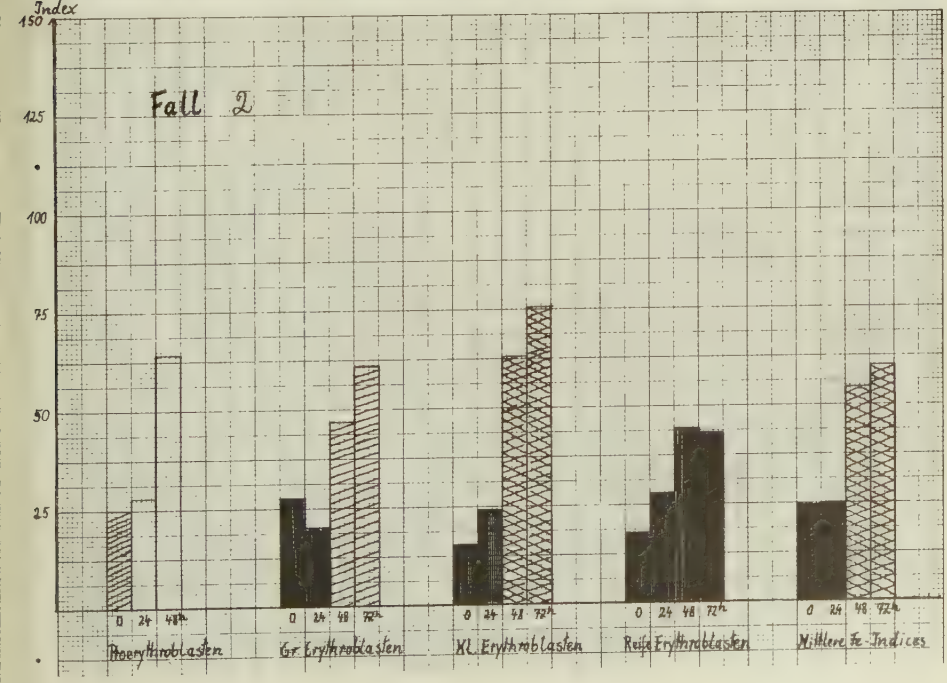
Neben einer stetigen Erhöhung des Fe-Index durch alle Kultivierungsphasen finden sich auch solche Fälle, bei denen sich wie in Abb.2 der Fe-Index erst nach Verminderung der einen oder anderen Kultivierungsphase erhöht. In Abb.4 weisen die kleinen und die reifen Erythroblasten unabhängig von der Züchtungsdauer ein nahezu gleichbleibendes Niveau der Indices auf.
Im Fall 6 (Panmyelopathie) gleichen sich nahezu in der 24- und 72-Stunden-Kultur die ohnehin niedrigen Eisenwerte bei den großen, kleinen und reifen Erythroblasten.
Wie die Aufstellung der mittleren Fe-Indexwerte und die entsprechenden Abb. für die ersten 7 Patienten zeigen, ist unter der Kultivierung fast immer eine Zunahme der siderophilen Granula in den Erythroblasten festzustellen, nur Fall 6 verhält sich nicht eindeutig. Darüber hinaus verschiebt sich das Verhältnis von eisenfreien Zellen zu eisenhaltigen zugunsten der eisenhaltigen je länger kultiviert wird, wie aus den Tabellen ersichtlich.
Gleichzeitig erhöht sich der Anteil der Siderozyten an den siderophilen Zellen außerordentlich und er-

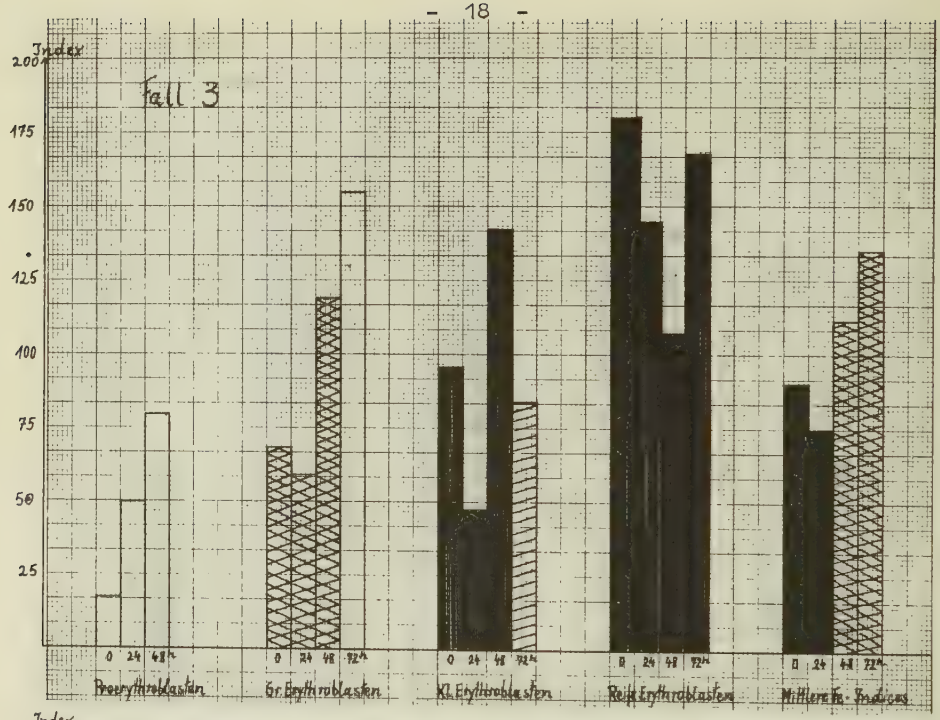
reicht in der 48- bzw. 72-Stunden-Kultur seinen höchsten Wert (Tab.6-8 und 1-4).

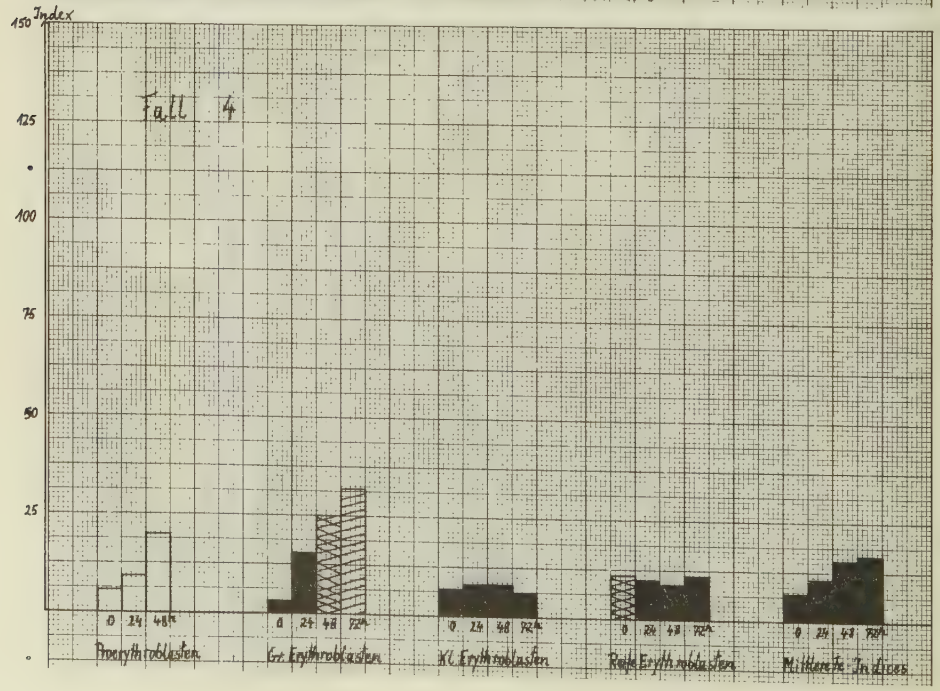
Ein entgegengesetztes Verhalten tritt uns in den Fällen 8 und 9 entgegen, denn einerseits nehmen der Eisenindex und auch die mittleren Fe-Indexwerte dieser beiden perniciösen Anämien in der Kultur nicht zu sondern ab, andererseits verringert sich das Verhältnis der siderophilen Zellen zu den Erythroblasten mit zunehmender Züchtungsdauer.
Eine Auffächerung der Sideroblasten (siehe Tabellen) in 3 verschiedene Stufen des Eisengehalts und ein Vergleich ihrer Zellzahl vom Sofortausstrich über alle Kulturstufen veranschaulicht, daß mit fortschreitender Züchtung die Fe-Stufe I stärker abfällt als die Fe-Stufen II und III. Ja, es kommt nicht nur zu einer relativen, sondern in 2 Fällen (4 und 5) auch zu einer absoluten Zunahme der Zellzahl der Fe-Stufen II und III.

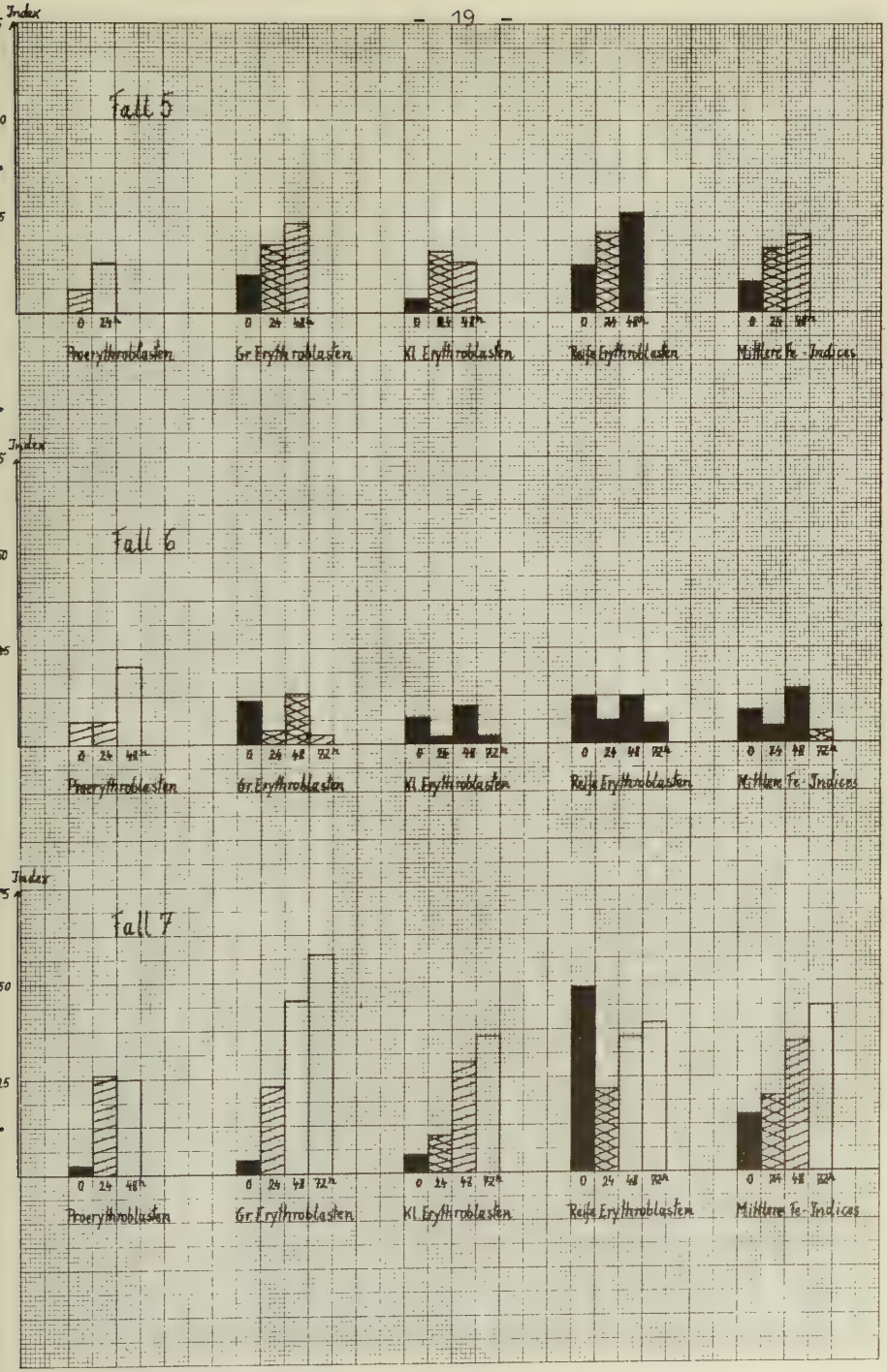
Bei der mikroskopischen Auswertung aller Fälle fällt auf, daß die Eisenkörnchen in dem 48- oder 72-Stunden-Ausstrich relativ gesehen zahlreicher und fast immer plumper und größer sind als nach 24 Stunden Kultivierung.

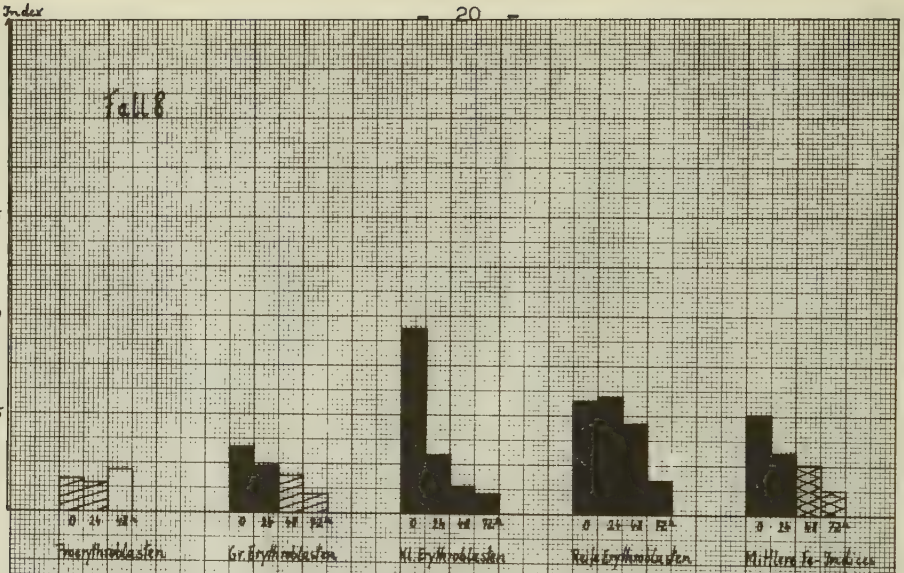

Index
150
125
100
75
50
25
Fall 1
0 24 48 72h
Proerythroblasten
Gr. Erythroblasten
Kl. Erythroblasten
Reife Erythroblasten
Mittlere Fe-Indices

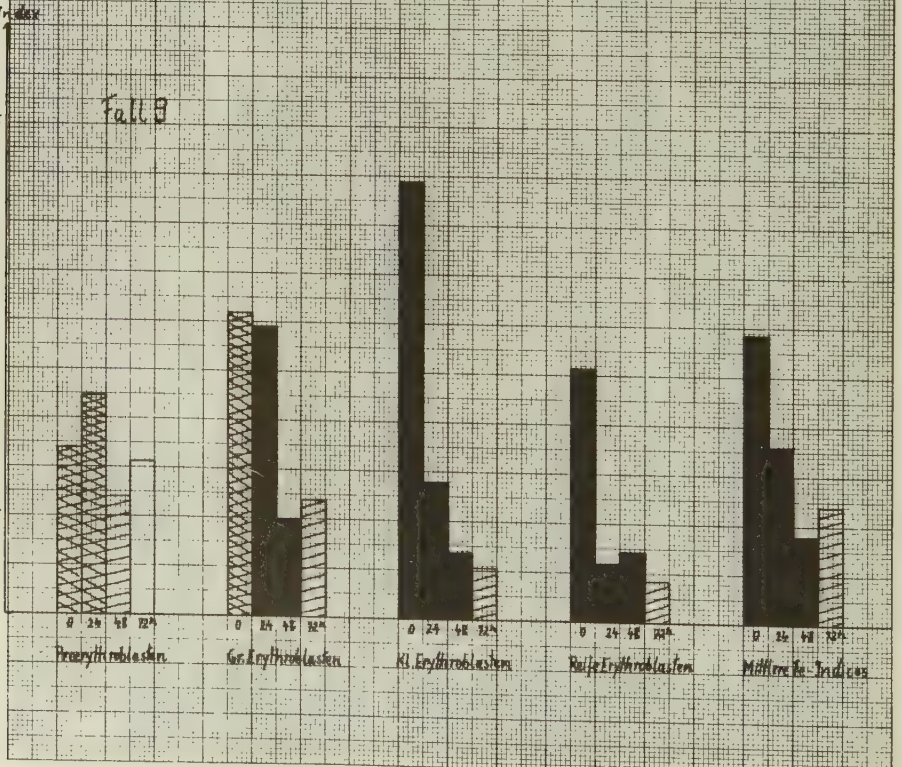

Index
150
125
100
75
50
25
Fall 2
0 24 48 72h
Proerythroblasten
Gr. Erythroblasten
Kl. Erythroblasten
Reife Erythroblasten
Mittlere Fe-Indices


Index
Fall 3
200
175
150
125
100
75
50
25
0 24 48 72h
Proerythroblasten
Gr. Erythroblasten
Kl. Erythroblasten
Reife Erythroblasten
Mittlere Er. Indices


Index
Fall 4
150
125
100
75
50
25
0 24 48 72h
Proerythroblasten
Gr. Erythroblasten
Kl. Erythroblasten
Reife Erythroblasten
Mittlere Er. Indices


Index
75
50
25
Fall 5
0 24 48h
Proerythroblasten
Gr. Erythroblasten
Kl. Erythroblasten
Reife Erythroblasten
Mittlere Fe-Indices
Index
75
50
25
Fall 6
0 24 48 72h
Proerythroblasten
Gr. Erythroblasten
Kl. Erythroblasten
Reife Erythroblasten
Mittlere Fe-Indices
Index
75
50
25
Fall 7
0 24 48 72h
Proerythroblasten
Gr. Erythroblasten
Kl. Erythroblasten
Reife Erythroblasten
Mittlere Fe-Indices


Index
125
100
75
50
25
Fall 8
0 24 48 72h
Proerythroblasten
Gr. Erythroblasten
Kl. Erythroblasten
Reife Erythroblasten
Mittlere Fe-Indices


Index
150
125
100
75
50
25
Fall 9
0 24 48 72h
Proerythroblasten
Gr. Erythroblasten
Kl. Erythroblasten
Reife Erythroblasten
Mittlere Fe-Indices

Fall 1

Pat. Wilhelm M., 85 J.

Der Pat. kommt mit leichten Anzeichen einer Pneumonie und Druckschmerzen im li Oberbauch zur stat. Aufnahme. Außerdem klagt er über Appetitlosigkeit und Gewichtsabnahme.
Das i.v. Cholecystogramm ergibt eine geschrumpfte Gallenblase bei einem auf Daumendicke erweiterten Ductus choledochus.
Der Eisenresorptionstest deutet auf eine Resorptionsstörung hin. Behandlung mit Folsäure und Benadon^{R}, wie sie bei sideroachrestischen Anämien empfohlen wird, läßt den Hb-Wert jedoch nicht ansteigen. Ausschluß einer perniziösen Anämie durch den Schilling-Test.

Blutsenkungsgeschwindigkeit 8o/11o
Eisenspiegel im Serum: 62,5γ %

Blutbild z.Zt. der Sternalpunktion:

Erythrozyten	2,94	Mill. pro cmm
Hb	11,1	g %
Hb/E	37,5	"
Anisozytose	++	
Poikilozytose	+	
Thrombozyten	149 000	pro cmm
Retikulozyten	3	o/oo
Leukozyten	6 700	pro cmm
Linksverschiebung	21	Stabkernige

Sternalpunktat: Angeregte Erythropoese mit Megaloblastoiden in allen Reifestufen.

Diagnose: Hyperchrome Anämie bei fraglicher Sideroachresie.

Fall 1 (Pat. Wilhelm M., 85 J.)

Quantitative Auswertung

des Sofortausstriches der Kulturausstriche

(angegeben als Eisen-Index)

	0 h	24 h	48 h	72 h
Proerythroblasten	26	68	82	75
Große Erythroblasten	36	1o9	112	133
Kleine Erythroblasten	41	97	113	1o2
Reife Erythroblasten	9o	88	98	128
Mittlerer Indexwert:	48,25	68	1o1,25	1o9,5

Darstellung in Abb. 1

Tabelle 1:

Gesamtzahl der Erythroblasten (O) sowie der Sideroblasten und Siderozyten der Fe-Stufen I, II, III und ihr zahlenmäßiges Verhältnis zueinander:

	O	I	II	III	Ebl:Sbl.:Szyt.	Szyt/Sbl.
0 h	724	16o(74)	45(3o)	92(76)	4,o2:1,65:1	60,6 %
24 h	424	154(96)	65(18)	149(111)	1,88:1,63:1	59,9 %
48 h	174	52(39)	47(24)	93(75)	1,26:1,39:1	72,2 %
72 h	99	27(28)	10(10)	61(40)	1,28:1,28:1	79,6 %

(In Klammern die entsprechende Anzahl der Siderozyten)

Fall 2

Pat. Richard D., 63 J.

Der Patient wird wegen einer seit Monaten bestehenden stark beschleunigten Blutsenkungsreaktion und intermittierender Fieberschübe aufgenommen.
Die weiteren klinischen Untersuchungen haben u. a. einen Leberschaden, einen rechtsseitigen Nierentumor und einen Altersdiabetes ergeben.

Blutsenkungsreaktion 122/125
C-reaktives Protein ist positiv.
Antistreptolysintiter 125 ASE.
Eisenspiegel im Serum: 27,2 γ %

Blutbild z.Zt. der Sternalpunktion:

Erythrozyten	4,56 Mill. pro cmm
Hb	12,0 g %
Hb/E	26 γγ
Anisozytose	(+)
Poikilozytose	(+)
Thrombozyten	260 000 pro cmm
Retikulozyten	26 o/oo
Leukozyten	12 300

Sternalpunktat: Die rote Reihe ist in allen Reifestufen gut vertreten. Anteilmäßig finden sich viele reife Erythroblasten.

Diagnose: Hypernephroides Carcinom re,
Leberparenchymschaden und
mäßiger Altersdiabetes.

Fall 2 (Pat. Richard D., 63 J.)

Quantitative Auswertung

des Sofortausstriches der Kulturausstriche

(angegeben als Eisen-Index)

	0 h	24 h	48 h	72 h
Proerythroblasten	25	28	64	0
Große Erythroblasten	28	2o	47	61
Kleine Erythroblasten	15	24	63	76
Reife Erythroblasten	18	28	44	43
Mittlerer Fe-Indexwert	24	25	54,5	6o

Darstellung in Abb. 2

Tabelle 2:

Gesamtzahl der Erythroblasten (0) sowie der Sideroblasten und Siderozyten der Fe-Stufen I, II, III und ihr zahlenmäßiges Verhältnis zueinander:

	0	I	II	III	Ebl.:Sbl.:Szyt.	Szyt/Sbl.
0 h	252o	199(12o)	1o3(45)	53(9)	14,5 :2,o2:1	48,9 %
24 h	1344	133(87)	43(23)	72(32)	9,55:1,75:1	57,2 %
48 h	496	85(69)	24(17)	68(56)	3,49:1,25:1	8o,4 %
72 h	279	5o(67)	33(19)	5o(39)	2,23:1,o6:1	94,o %

(In Klammern die entsprechende Anzahl der Siderozyten)

Fall 3

Pat. Elisabeth Sch., 75 J.

Der Pat. wurde vor vier Jahren die rechte Mamma wegen eines Carcinoms amputiert. Subjektiv bestehen jetzt unklare abdominelle Beschwerden und Schmerzen in der linken Thoraxseite. Röntgenologisch finden sich linksseitige tumoröse Pleuraverdickungen, die auf eine ausgedehnte Pleura-Carcinose hinweisen.

Blutsenkungsgeschwindigkeit 93/1o9

Blutbild z.Zt. der Sternalpunktion:

Erythrozyten	3,75	Mill. pro cmm
Hb	8,1	g %
Hb/E	22	"
Anisozytose	++	
Poikilozytose	++	
Thrombozyten	113 000	pro cmm
Retikulozyten	4	o/oo
Leukozyten	7 200	pro cmm

Sternalpunktat: Die rote Reihe ist in allen Reifestufen vertreten. Die Erythroblasten kommen vermehrt vor.

Diagnose: Hypochrome Anämie bei Neoplasma

Fall 3 (Pat. Elisabeth Sch., 75 J.)

Quantitative Auswertung

des Sofortausstriches der Kulturausstriche

(angegeben als Eisen-Index)

	0 h	24 h	48 h	72 h
Proerythroblasten	17	5o	8o	0
Große Erythroblasten	68	59	119	155
Kleine Erythroblasten	96	47	142	84
Reife Erythroblasten	18o	144	1o7	167
Mittlerer Fe-Indexwert	90,25	75	112	135,3

Darstellung in Abb. 3

Tabelle 3:

Gesamtzahl der Erythroblasten (0) sowie der Sideroblasten und Siderozyten der Fe-Stufen I, II, III und ihr zahlenmäßiges Verhältnis zueinander:

	0	I	II	III	Ebl.:Sbl.:Szyt.	Szyt/Sbl
0 h	514	78(16)	57(17)	264(65)	5,16:4,1 :1	24,6 %
24 h	511	100(30)	75(30)	222(119)	2,85:2,22:1	45,2 %
48 h	331	73(76)	57(36)	328(144)	1,29:1,79:1	55,9 %
72 h	195	32(30)	35(40)	2o8(1o1)	1,14:1,61:1	62,2 %

(In Klammern die entsprechende Anzahl der Siderozyten)

Fall 4

Pat. Margarete D., 61 J.

Die Patientin kommt mit hochgradigen Ödemen, ausgeprägter Lippencyanose sowie Ruhedyspnoe zur stat.Aufnahme. Die Leber ist um 2 - 3 QF vergrößert, das Herz allseits - besonders links - verbreitert. Weiterhin finden sich schwere Ausscheidungsstörungen beider Nieren. Der Harnstoff ist auf 90 mg %, das Kreatinin auf 3,86 mg % erhöht, während die Exkretionsleistung für Phenolrot mit 5,2 % patholog. vermindert ist. Für einen Leberparenchymschaden sprechen eine Mancke-Sommer-Reaktion von unter 30 mg %, ferner ein Bromsulphalein-Test von 0,85 mg %. Die Elektrophorese zeigt bei normalem Gesamteiweiß eine Hypalbuminämie und eine Vermehrung der Gammaglobuline an.

Blutsenkungsgeschwindigkeit ist mit 126/132 stark beschleunigt.

Antistreptolysintiter 333 ASE.

C-reaktives Protein und Latextest sind positiv.

Eisenspiegel im Serum: 96,5 γ %

Blutbild z.Zt. der Sternalpunktion:

Erythrozyten	3,36 Mill. pro cmm
Hb	9,9 g %
Hb/E	30 γγ
Anisozytose	(+)
Poikilozytose	(+)
Thrombozyten	93 000 pro cmm
Retikulozyten	7 o/oo
Leukozyten	11 000 pro cmm

Sternalpunktat: Die Erythropoese ist gut vertreten. Es finden sich vorwiegend polychromatische Erythroblasten, daneben aber auch viele Makroblasten und Megaloblastoide.

Diagnose: Chronische Pyelonephritis mit renaler und cardialer Insuffizienz, Diabetes mellitus und Leberparenchymschaden.

Fall 4 (Pat. Margarete D., 61 J.)

Quantitative Auswertung

	des Sofortausstriches	der Kulturausstriche		
	(angegeben als Eisen-Index)			
	0 h	24 h	48 h	72 h
Proerythroblasten	6	9	2o	-
Große Erythroblasten	3	16	25	32
Kleine Erythroblasten	7	8	8	6
Reife Erythroblasten	11	1o	9	11
Mittlerer Fe-Indexwert	6,75	1o,75	15,5	16,3

Darstellung in Abb. 4

Tabelle 4:

Gesamtzahl der Erythroblasten (O) sowie der Sideroblasten und Siderozyten der Fe-Stufen I, II, III und ihr zahlenmäßiges Verhältnis zueinander:

	O	I	II	III	Ebl.:Sbl.:Szyt.	Szyt/Sbl
0 h	942	17(4)	9(2)	7 (3)	1o4,7:3,7 :1	27,2 %
24 h	951	1o3(21)	3(1)	4 (3)	38,o:4,4 :1	22,7 %
48 h	976	75(49)	18(1o)	7 (5)	15,2:1,56:1	64,o %
72 h	771	35(67)	14(1o)	11(2)	9,75:0,71:1	131,6 %

(In Klammern die entsprechende Anzahl der Siderozyten)

Fall 5

Pat. Ida R., 71 J.

Die Aufnahme der Patientin erfolgt wegen einer chronisch rezidivierenden Pneumonie. Außerdem klagt sie über diffuse Knochenschmerzen besonders in den Gelenken der Beine.
Die Elektrophorese weist mit 41,1 % eine relative Vermehrung der Gamma-Globuline auf.

C-reaktives Protein ist positiv.
Antistreptolysintiter 166 ASE.
Bence-Jones im Urin negativ.
Die Röntgenaufnahme des Schädels zeigt einige verdächtige Aufhellungsbezirke, so daß der Verdacht auf ein Plasmocytom nicht ausgeschlossen werden kann.
Blutsenkungsgeschwindigkeit ist mit 1o7/1o8 stark beschleunigt.

Blutbild z.Zt. der Sternalpunktion:

Erythrozyten	5,18	Mill. pro cmm
Hb	17,o	g %
Hb/E	33	"
Anisozytose	(+)	
Poikilozytose	(+)	
Thrombozyten	434 000	pro cmm
Retikulozyten	26	o/oo
Leukozyten	2 300	pro cmm

Sternalpunktat: Die Erythropoese ist relativ vermindert. Megaloblasten sind nicht vorhanden.

Diagnose: Chronische therapieresistente Pneumonie.

Fall 5 (Pat. Ida R., 71 J.)

Quantitative Auswertung

	des Sofortausstriches	der Kulturausstriche (angegeben als Eisen-Index)		
	0 h	24 h	48 h	72 h
Proerythroblasten	6	13	0	
Große Erythroblasten	1o	17	23	
Kleine Erythroblasten	4	16	13	
Reife Erythroblasten	12	21	26	
Mittlerer Fe-Indexwert	8	16,75	20,66	

Darstellung in Abb. 5

Tabelle 5:

Gesamtzahl der Erythroblasten (O) sowie der Sideroblasten und Siderozyten der Fe-Stufen I, II, III und ihr zahlenmäßiges Verhältnis zueinander:

	O	I	II	III	Ebl.:Sbl.:Szyt.	Szyt/Sbl
0 h	953	37(19)	8(3)	9(12)	28,o:1,59:1	63,o %
24 h	391	23(11)	6(2)	13(9)	17,8:1,91:1	52,5 %
48 h	349	2o(1o)	11(4)	16(13)	12,9:1,74:1	57,5 %
72 h						

(In Klammern die entsprechende Anzahl der Siderozyten)

Fall 6

Pat. Herta B., 73 J.

Im Anschluß an eine Probeexcision aus einem Knoten der Mamma, der histologisch keinen Anhalt für Malignität ergibt, erhält die Patientin eine einmalige Injektion von 0,4 mg Trenimon[R]. Eine Woche darauf klagt sie über Schwindel, Schwäche und Übelkeit. Im weiteren Verlauf entwickelt sich eine hochgradige Anämie (Hb 6,25 g %) und eine Leukopenie von 1 300 cmm. Die Medikation mit Paraxin[R], Ferrlicit[R], Ultracorten[R] (50 mg/die) und Gabe von Vitamininfusionen und Blutkonserven führt zu einer Besserung der Beschwerden und einem Anstieg des Hb.

Coombstest ist negativ.
Blutsenkungsgeschwindigkeit 60/105
Eisenspiegel im Serum: 34 γ %

Blutbild z.Zt. der Sternalpunktion:

Erythrozyten	2,61	Mill. pro cmm
Hb	6,6	g %
Hb/E	26	γγ
Anisozytose	+	
Poikilozytose	+	
Thrombozyten	86 000	pro cmm
Retikulozytose	6	o/oo
Leukozyten	1 300	pro cmm

Sternalpunktat: Die Sternalpunktion ergibt schwere Knochenmarkinsuffizienz mit Rückgang der Granulopoese bei Retikulumzellvermehrung. Die Erythropoese ist relativ stark vertreten, linksverschoben, z.T. megaloblastid. Sehr viele Mitosen der Erythroblasten.

Diagnose: Panmyelopathie

Fall 6 (Pat. Herta B., 73 J.)

Quantitative Auswertung

	des Sofortausstriches	der Kulturausstriche		
	(angegeben als Eisen-Index)			
	0 h	24 h	48 h	72 h
Proerythroblasten	6	6	2o	-
Große Erythroblasten	11	4	13	2
Kleine Erythroblasten	7	2	1o	2
Reife Erythroblasten	12	6	12	5
Mittlerer Fe-Indexwert	9	4,5	13,75	3

Darstellung in Abb. 6

Tabelle 6:

Gesamtzahl der Erythroblasten (O) sowie der Sideroblasten und Siderozyten der Fe-Stufen I, II, III und ihr zahlenmäßiges Verhältnis zueinander:

	O	I	II	III	Ebl.:Sbl.:Szyt.	Szyt/Sbl
0 h	1050	62(27)	11(4)	9(15)	23,4:1,56:1	56,1 %
24 h	1034	21(8)	5(2)	9(7)	60,6:2,o6:1	48,6 %
48 h	759	23(34)	4(7)	20(24)	11,7:0,72:1	138,o %
72 h	601	11(8)	2(3)	3(3)	42,o:1,14:1	87,5 %

(In Klammern die entsprechende Anzahl der Siderozyten)

Fall 7

Pat. Willy B., 69 J.

Der Patient kommt nach einem Anfall von Bewußtlosigkeit bei schwankenden Blutdruckwerten zw. 170/80 und 210/110 zur stat. Aufnahme. Er klagt über Durchfälle. Im Stuhl finden sich vereinzelt Muskelfasern und Fetttröpfchen. Daneben besteht eine histaminrefraktäre Achylie. Nach Gabe von Cytobion[R] und Eisen steigen die Retikulozyten auf 66 o/oo an. Die Mancke-Sommer-Reaktion ist mit 50 mg % erniedrigt.

Blutsenkungsgeschwindigkeit 26/44
Eisen im Serum: 52,5 γ %

Blutbild z.Zt. der Sternalpunktion:

Erythrozyten	2,78	Mill. pro cmm
Hb	11,1	g %
Hb/E	39,5	γ γ
Anisozytose	++	
Poikilozytose	+	
Thrombozyten	232 000	pro cmm
Retikulozyten	32	o/oo
Leukozyten	5 000	pro cmm

Sternalpunktat: Die normale Erythropoese ist verdrängt durch die starke Megalopoese in allen Reifestadien.

Diagnose: Dekompensierte perniciöse Anämie bei Pankreasinsuffizienz und Hochdruck.

Fall 7 (Pat. Willy B., 69 J.)

Quantitative Auswertung

des Sofortausstriches der Kulturausstriche

(angegeben als Eisen-Index)

	0 h	24 h	48 h	72 h
Proerythroblasten	3	26	25	-
Große Erythroblasten	4	23	46	57
Kleine Erythroblasten	5	1o	29	36
Reife Erythroblasten	49	22	36	39
Mittlerer Fe-Indexwert	15,25	20,25	34	44

Darstellung in Abb. 7

Tabelle 7:

Gesamtzahl der Erythroblasten (O) sowie der Sideroblasten und Siderozyten der Fe-Stufen I, II, III und ihr zahlenmäßiges Verhältnis zueinander:

	O	I	II	III	Ebl.:Sbl.:Szyt.	Szyt/Sbl
0 h	904	35(38)	24(39)	18(6)	10,9 :0,93:1	111 %
24 h	418	21(15)	17(16)	9(7)	11,o :1,23:1	82,5 %
48 h	59	9(8)	7(18)	1(-)	2,26:0,65:1	153 %
72 h	29	4(3)	5(7)	1(2)	2,42:0,83:1	120 %

(In Klammern die entsprechende Anzahl der Siderozyten)

Fall 8

Pat. Antonia D., 78 J.

Die Patientin wird wegen einer hochgradigen Anämie stat. aufgenommen. Sie klagt über Paraesthesien in Händen und Füßen, die mit einer anamnestisch bekannten Anacidität und Glossitis einhergehen. Im Sternalmark findet man bei einer stark angeregten Erythropoese viele Megaloblasten in allen Reifestadien, vor allem in den unreifen. Nach Vitamin B_{12}-Gaben, Säuresubstitution durch Enzynorm und Gabe von Eisenpräparaten kam es zu einer Retikulozytenkrise mit maximal 71 o/oo Retikulozyten und einem Anstieg der Erythrozyten.

Blutsenkungsgeschwindigkeit ist mit 38/68 erhöht.
Eisenspiegel im Serum: 24,4 γ %

Blutbild z.Zt. der Sternalpunktion:

Erythrozyten	1,0 Mill.	pro cmm
Hb	3,8 g %	
Hb/E	38 γγ	
Anisozytose	+	
Poikilozytose	(+)	
Thrombozyten	46 000	pro cmm
Retikulozyten	71 o/oo	
Leukozyten	3 600	pro cmm

Sternalpunktat: Stark angeregte Erythropoese, viele Megaloblasten in allen Reifestadien, vor allem in den unreifen.

Diagnose: Dekompensierte perniciöse Anämie mit funikulärer Myelose.

Fall 8 (Pat. Antonia D., 78 J.)

Quantitative Auswertung

des Sofortausstriches der Kulturausstriche

(angegeben als Eisen-Index)

	0 h	24 h	48 h	72 h
Proerythroblasten	8	7	11	-
Große Erythroblasten	17	12	1o	5
Kleine Erythroblasten	47	15	7	5
Reife Erythroblasten	29	3o	23	9
Mittlerer Fe-Indexwert	25,25	16	12,75	6,33

Darstellung in Abb. 8

Tabelle 8:

Gesamtzahl der Erythroblasten (O) sowie der Sideroblasten und Siderozyten der Fe-Stufen I, II, III und ihr zahlenmäßiges Verhältnis zueinander:

	O	I	II	III	Ebl.:Sbl.:Szyt.	Szyt/Sbl
0 h	720	181(79)	40(13)	18(12)	6,93:2,3 :1	52,8 %
24 h	821	1o7(44)	13(6)	16(7)	14,4 :2,3 :1	41,8 %
48 h	426	38(21)	3(5)	4(3)	14,7 :1,55:1	64,4 %
72 h	718	46(19)	3(4)	3(7)	23,9 :1,73:1	57,7 %

(In Klammern die entsprechende Anzahl der Siderozyten)

Fall 9

Pat. Otto S., 90 J.

Die Einweisung des Patienten erfolgt unter dem Verdacht auf ein Magencarcinom. Eine perniciöse Anämie konnte durch typisches Megaloblastenmark, einen pos. Schilling-Test und auffallende Retikulozytenkrise nach Vitamin B_{12}-Gaben gesichert werden. Im EKG finden sich außerdem Zeichen eines Myokardschadens mit absoluter Arrhythmie bei Vorhofflimmern, der eine Behandlung des Herzens mit Lanicor^{R}(5 x 0,25 mg/die) erforderlich macht.

Die Blutsenkungsgeschwindigkeit ist mit 18/26 leicht erhöht.

Eisenspiegel im Serum: 198,8 γ %

Blutbild z.Zt. der Sternalpunktion:

Erythrozyten	2,39 Mill. pro cmm
Hb	9,7 g %
Hb/E	41 γγ
Anisozytose	++
Poikilozytose	++
Thrombozyten	45 000 pro cmm
Retikulozyten	9 o/oo
Leukozyten	4 900 pro cmm

Sternalpunktat: Dreiviertel der Zellen der roten Reihe sind Megaloblasten, stark linksverschoben und stark atypisch, auch in den reifen Formen. Sehr reichlich Mitosen.

Diagnose: Dekompensierte perniciöse Anämie

Fall 9 (Pat. Otto S., 90 J.)

Quantitative Auswertung

des Sofortausstriches der Kulturausstriche

(angegeben als Eisen-Index)

	0 h	24 h	48 h	72 h
Proerythroblasten	42	56	3o	39
Große Erythroblasten	77	74	25	3o
Kleine Erythroblasten	111	35	17	13
Reife Erythroblasten	64	15	18	1o
Mittlerer Fe-Indexwert	73,5	45	22,5	30,5

Darstellung in Abb. 9

Tabelle 9:

Gesamtzahl der Erythroblasten (O) sowie der Sideroblasten und Siderozyten der Fe-Stufen I, II, III und ihr zahlenmäßiges Verhältnis zueinander:

	O	I	II	III	Ebl.:Sbl.:Szyt.	Szyt/Sbl
0 h	627	157(64)	35(11)	178(53)	4,9 :2,89:1	34,6 %
24 h	707	115(23)	17(8)	71(74)	6,74:1,93:1	45,6 %
48 h	814	84(10)	12(1)	26(15)	31,2 :4,68:1	21,3 %
72 h	183	21(3)	1(3)	5(4)	18,3 :2,7 :1	37,1 %

(In Klammern die entsprechende Anzahl der Siderozyten)

Diskussion

Zur Darstellung siderophiler Eiseneinschlüsse bedienten wir uns der Berliner-Blau-Färbung und wandelten eine von Bowman benutzte Methode bezüglich Konzentration und Einwirkdauer der Färbekomponenten ab. Doch zeigte sich, daß unsere Sofortausstriche im Mittel (18,3 %) etwas unterhalb der von Nishida und Labbe angegebenen Grenze von 20 % Sideroblasten (gemessen an der Gesamterythroblastenzahl) liegen. Es erscheint daher möglich, daß unser geringerer Sideroblastenanteil darauf zurückzuführen ist, daß sich bei unserer Färbemethode die feinstgranulierten Eisenkörnchen der Anfärbung und somit auch der Auswertung entziehen. -

Die von uns ausgewerteten 9 Fälle stellen insofern eine Auswahl dar, als zwei weitere (eine Infekt- und eine Eisenmangelanämie), bei denen in den Kulturpräparaten Sideroblasten nicht vorkamen, unberücksichtigt gelassen wurden.

In den Originalausstrichen weist der prozentuale Anteil der Sideroblasten eine Schwankungsbreite von minimal 3,4 % (bei einem Fall von Infektanämie bei Leberparenchymschaden) und maximal von 43,6 % (bei einer Tumoranämie) auf.

Stellen wir dem Sideroblastenanteil die mittleren Fe-Indices der Originalausstriche gegenüber, so nehmen wieder obige Fälle mit den Fe-Indices 6,75 bzw. 90,25 die beiden Endpunkte der Verteilungsskala ein.

Tabelle 10: Anteil der Sideroblasten an der Gesamt-Erythroblastenzahl, angegeben in %

Fälle	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0 h	29,1	12,4	43,6	3,4	5,4	7,3	7,9	24,9	37,1
24 h	46,2	15,5	43,8	10,9	9,7	3,3	10,1	14,2	22,3
48 h	52,4	26,3	58,2	9,3	11,6	5,8	22,4	9,6	13,0
72 h	50,6	32,3	58,5	7,2	---	2,7	25,6	6,8	12,8

Fe-Indexwerte, wie sie von Krauß und Merker bei 7 perniciösen Anämien gefunden wurden (60 - 120), konnten nur von Fall 9 mit einem Fe-Index von 73,5 erreicht werden. Die beiden übrigen (Fall 7 und 8) lagen mit den Fe-Indices 15,25 u. 25,25 erheblich darunter. Für Infekt- und Tumoranämien gaben Krauß und Merker eine Fe-Indexbandbreite von 0 bis 25 an, dem unsere Fälle 2 und 4 (Fe-Indices 24 und 6,75) entsprachen. Im Fall 3, unserem höchsten Wert, müßte nach Krauß und Merker eine toxische Markschädigung vorliegen, wenn man nicht eine beginnende Sideroachresie annehmen will.

Mit zunehmender Kultivierung ist der Anstieg des Fe-Index der Sideroblasten nicht identisch mit einer proportionalen Zunahme des Sideroblastenanteils. Doch zeigen alle Fälle, die in der Kultur eine Zunahme bzw. Abnahme ihrer mittleren Fe-Indices aufweisen, einen gleichsinnigen Trend hinsichtlich ihres prozentualen Sideroblastenanteils. Eine Ausnahme bildet Fall 4, wo der Sideroblastenanteil nach 24-stündiger Züchtung seinen höchsten Wert erreicht und mit fortdauernder Kultivierung abnimmt, obgleich der Fe-Index weiter ansteigt. Das bedeutet, daß sich im Laufe der Kultur der Fe-Gehalt des einzelnen Sideroblasten - bezogen auf die Gesamt-Erythroblastenzahl einer Fe-Stufe - erhöht. Die Vermehrung des Eisens ist vermutlich auf ein Zusammensintern von vorher lichtmikroskopisch nicht sichtbarem Mizelleneisen (elektronenoptisch von Bessis nachgewiesen) zurückzuführen. Diese Annahme kann auch durch die zwar theoretisch nicht völlig auszuschließenden, aber doch gänzlich unwahrscheinlichen Möglichkeiten einer

in-vitro-Aufnahme von Eisen aus anderen Zellen des Knochenmarksubstrates und einer Eisenaufnahme von der Glasfläche nicht beeinträchtigt werden.
Unsere Untersuchungen bestätigen die von Kaplan, Zuelzer und Moriquand gemachten Beobachtungen, daß der geringe Sideroblastenanteil im Originalausstrich bei Eisenmangelanämien durch die Kultivierung ansteigt.

Die Fälle 4 und 6 sind wegen niedriger Ausgangswerte von geringer Aussagekraft.
Von den drei untersuchten perniziösen Anämien erhöhen sich mit der Kultivierung die mittleren Fe-Indices wie auch der Sideroblastenanteil nur bei einem Fall (7), während bei den anderen Fällen (8 und 9) eine fortlaufende Abnahme der Indices mit der Kulturzeit zu verzeichnen ist. Diese scheinbare Diskrepanz beruht auf einem unterschiedlichen Anteil an Megaloblasten, die im Fall 7 schon im Ausgangspräparat ungewöhnlich schwach mit Eisen beladen sind (Tab.7), während der Siderozytenanteil nicht vermindert ist. Vielleicht spielt eine Eisenresorptionsstörung durch die Pankreasinsuffizienz dabei eine Rolle. Die beiden anderen perniziösen Anämien zeigen im Ausgangspräparat einen erhöhten Fe-Index, wie für Megaloblasten typisch. In vitro treten aber die Eisenkörnchen mit zunehmender Reifung zurück, werden nicht wie bei den Normoblasten vermehrt. Mit der Normalisierung (Boll) in vitro nimmt der Anteil der Sideroblasten im Megaloblastenmark ab. Die Folge ist eine stufenweise Verminderung der mittleren Fe-Indices bei diesen beiden perniziösen Anämien.

Stellen wir den prozentualen Anteil der Siderozyten dem der Sideroblasten in Sofort- und Kulturpräparaten gegenüber, so ist in den Fällen 1 - 4 und 6 ein deutlicher Anstieg des Siderozytengehaltes, bezogen auf die Erythroblasten in vitro, zu beobachten. Nur der Fall 5 mit schwerem chronischen Infekt ohne Anämie zeigt einen leichten relativen Rückgang der Siderozyten in vitro. Bei den drei perniziösen Anämien verschiebt sich das Verhältnis von Siderozyten zu Sideroblasten in der Kultur nicht so eindeutig zugunsten der Siderozyten. Doch weisen die beiden Kulturversuche mit Abnahme der Sidero-

blasten (Fall 8 u.9) eine geringere prozentuale Siderozytenzunahme gegenüber den anderen Fällen mit Anämie (1-4, 6 u.7) auf. Im Mittel beträgt der Siderozytenanstieg zwischen dem Originalausstrich und dem höchsten Wert in vitro für die Erythropoese 55,o % und für die Megalopoese 16,3 %. Das gegensätzliche Verhalten der Megalopoese in vitro gegenüber der angeregten Erythropoese bei Anämien kommt also nicht nur bei Betrachtung des Sideroblastenanteils und der Eisenindices zur Darstellung, sondern auch in der Produktion von Siderozyten in vitro.

Zusammenfassung

Mit der Berliner-Blau-Färbung haben wir Eisengranula in Erythroblasten bei verschiedenen Erkrankungen dargestellt, die wir sofort oder erst nach Züchtung in der Koagulumkultur anfärbten. Entsprechend dem Eisengehalt teilten wir die Zellen jedes Präparates in 4 Stufen (O bis III) ein und bestimmten nach Hayhoe und Quaglino den Eisenindex. Maßstab unserer Untersuchungen waren der mittlere Fe-Index und der prozentuale Anteil der Sideroblasten.

Einen deutlichen Anstieg des prozentualen Sideroblastenanteils und der mittleren Fe-Indices findet man bei Anämien (Abb.1, 2, 3 u.7) und einem Fall von Pneumonie mit Verdacht auf Plasmocytom (Abb.5).

Zwei Fälle mit niedrigen Ausgangswerten brachten bei steigender Tendenz der mittleren Fe-Indices keine besonderen Ergebnisse (Abb.4 u.6). Von den drei untersuchten perniziösen Anämien zeigen zwei (Fall 8 u.9) eine mit der Kultivierungszeit fortschreitende Abnahme der mittleren Fe-Indices (Abb.8 und 9) und des prozentualen Sideroblastenanteils (Tab. 10, S.40). Die unterschiedlichen Ergebnisse bei Megaloblastenanämien in vitro werden diskutiert.

Siderozyten weisen gegenüber Sideroblasten eine stärkere Zunahme nach der Kultivierung auf, jedoch nicht bei den beiden Megaloblasten-Anämien mit Abnahme der Sideroblasten in vitro.

Literaturverzeichnis

1. Anagnostou, E. und R.Bilger: Untersuchungen über siderophile Einschlußkörperchen in Erythroblasten und Erythrozyten. V. Kongr. Europ. Ges. Hämatologie, Freiburg 1955

2. Bernauer, W.: Neue Untersuchungen über Sideroblasten und Siderozyten. Inaug.-Diss. Freiburg 1957

3. Bessis, M. and J.Breton-Gorius: Iron metabolism in the bone marrow as seen by electron microscopy; a critical review. Blood 19, 635 (1962)

4. Bessis, M. and J.Breton-Gorius: Iron particles in normal erythroblasts and normal and patholog. erythrocytes. J.biophys.biochem.Cytol.3, 503 (1957)

5. Beutler, E., Robson, M.J., Buttenwieser, E.: A comparison of the plasma iron, ironbinding capacity, sternal marrow iron and other methods in the clinical evaluation of iron stores. Ann.Int.Med. 48 : 60, 1958

6. Bilger, R. und K.H. Tetzner: Über siderophile Einschlußkörperchen in den Zellen des erythropoetischen Systems. Acta Hämat.(Basel) 9, 137 (1953)

7. Björkman, S.E.: Chronic refractory anemia with sideroblastic bone marrow. A study of four cases. Blood 11, 25o (1956)

8. Boll, I. und G. Fuchs: Vereinfachtes Verfahren zur kurzfristigen Kultivierung von menschlichem Knochenmark in vitro. Blut VII, 257 (1961)

9. Boll, I. und G. Mersch: Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Erythropoese in vitro. Blut XVII, 193 (1968)

10. Bowman, W.D.: Abnormal (ringed) sideroblasts in the various hematologic and non-hematologic disorders. Blood 18, 662 (1961)

11. Brüschke, G.: Zur Physiologie und Pathophysiologie der Siderozyten. Schweiz.med.Wschr. 92, 202 (1962)

12. Brüschke, G.: Der Siderozyt Berlin: Akademie-Verlag 1962

13. Case, R.A.M.: Siderocytes in mammalian blood. Nature 152, 599 (1943)

14. Crosby, W.H.: Siderocytes and the spleen. Blood 12, 165 (1957)

15. Crosby, W.H.; and Sheehy, T.W.: Hypochromic iron-loading anemia: Studies of iron and haemoglobin metabolism by means of vigorous phlebotomy. Brit.J.Haemat. 6 : 56, 1960

16. Dacie, J.V., and J.Doniach: Basophilie property of iron-containing granules in siderocytes. J.Path.Bact. 59, 684 (1947)

17. Dacie, J.V., Smith, M.D., White, J.C., and Mollin, D.L.: Refractory normoblastic anemia: A clinical and hematological study of seven cases. Brit.J.Haemat. 5 : 56, 1959

18. Doniach, I., H.Grüneberg, and J.E.G. Pearson: The occurence of siderocytes in adult human blood. J.Path.Bact. 55, 23 (1943)

19. Douglas, A.S., and J.V. Dacie: The incidence and significance of iron containing granules in human erythrocytes and their precursors. J.Clin.Path. 6, 307 (1953)

20. Hayhoe, F.G.J., and D.Quaglino: Refractory sideroblastic anaemia and erythremic myelosis. Possible relationship and cytochemical observations. Brit.J.Haemat. 6, 381 (1960)

21. Heilmeyer, L.: Morphologie, Funktion und Bedeutung der Sideroblasten. Wien.Z.inn.Med. 44, 1 (1963)

22. Heilmeyer, L.: Durch Eisenstoffwechselstörungen bedingte Anämien. Wien.klin.Wschr. 73, 181 (1961)

23. Heilmeyer, L.: Die sideroachrestischen Anämien. Folia haemat. N.F. 6, 1 (1961)

24. Heilmeyer, L., Keiderling, W., Bilger, R. und Bernauer, H.: Über chronische refraktäre Anämien mit sideroblastischem Knochenmark. Folia haemat. 2 : 49, 1958

25. Huber, B.: Ein Beitrag zum Vorkommen der Genese der Siderozyten. Inaug.-Diss. Freiburg 1954

26. Kaplan, E., W.W. Zuelzer, and C. Mouriquand: Sideroblasts: A study of stainable non-hemoglobin iron in marrow normoblasts. Blood 9, 203 (1954)

27. Krauß, H.J.: Über die diagnostische Bedeutung von Sideroblasten, Perjodsäure - Schiff - positiven Erythroblasten und eisenspeichernden Retikulumzellen bei verschiedenen Anämien. Inaug.-Diss. Freiburg 1964

28. Merker, H.: Cytochemie der Blutzellen.
In: Handbuch der Inneren Medizin, II/1, 215 (1968)

29. Mollin, D.L.: Sideroblasts and sideroblastic anaemia.
Brit.J.Haemat. 11, 41 1:54 (1965)

30. Mouriquand, C.: Le sideroblast (étude morphologique et assai d'interpretation)
Rev. hemat. 13 : 1, 1958

31. Nishida, G. and Labbe, R.F.: Heme biosynthesis. On the incorporation of iron into protoporphyrins.
Biochem. Biophys. Acta 31 : 519, 1959

32. Pappenheimer, A.M., Thompson, W.P., Parker, D.D., and Smith, K.E.: Anaemia associated with unidentified erythrocytic inclusions, after splenectomy.
Quart. J. Med. 14 : 75, 1945

33. Timm, F.: Der histochem. Eisennachweis.
Histochemie 2, 143-149 (1960)

Studie im Rahmen der Assoziation Haematologie EURATOM-GSF, Nr. 031-64-1 BIAD.

Frau Professor Dr. med. Irene Boll möchte ich für die Überlassung des Themas sowie für die Unterstützung bei der Anfertigung der Arbeit sehr herzlich danken.

L E B E N S L A U F

Am 23.Januar 1935 wurde ich, Paul Kneifel, als Sohn des Pfarrers Dr. Eduard Kneifel und seiner Ehefrau Johanna, geb. Stenzel, in Löwenstadt (Brzeziny)/Polen geboren.

Vor Kriegsende flüchteten wir nach Westheim/Mittelfranken.
Hier besuchte ich die Volksschule, um anschließend an die Oberschule in Peine überzuwechseln.

Im Juli 1955 wanderte ich in die Vereinigten Staaten aus. Nach bestandener Reifeprüfung an der High-School Berkeley (1956) nahm ich das Studium (Premed) an der Universität von Kalifornien in Berkeley auf.

Zwischen 1958 und 1960 leistete ich meinen Militärdienst in Japan ab und wurde US-Staatsbürger.

Im November 1961 nahm ich das Medizinstudium an der Freien Universität Berlin auf, das ich am 1. Oktober 1968 mit dem Staatsexamen abschloß.

Seit Januar 1969 bin ich als Medizinalassistent tätig.

B. Ladewig · Dissertationsdruck · 1 Berlin 12 · Pestalozzistr. 105 · Tel. 318885

L E B E N S L A U F

Am 23.Januar 1935 wurde ich, Paul Kneifel, als Sohn des Pfarrers Dr. Eduard Kneifel und seiner Ehefrau Johanna, geb. Stenzel, in Löwenstadt (Brzeziny)/Polen geboren.

Vor Kriegsende flüchteten wir nach Westheim/Mittelfranken.
Hier besuchte ich die Volksschule, um anschließend an die Oberschule in Peine überzuwechseln.

Im Juli 1955 wanderte ich in die Vereinigten Staaten aus. Nach bestandener Reifeprüfung an der High-School Berkeley (1956) nahm ich das Studium (Premed) an der Universität von Kalifornien in Berkeley auf.

Zwischen 1958 und 1960 leistete ich meinen Militärdienst in Japan ab und wurde US-Staatsbürger.

Im November 1961 nahm ich das Medizinstudium an der Freien Universität Berlin auf, das ich am 1. Oktober 1968 mit dem Staatsexamen abschloß.

Seit Januar 1969 bin ich als Medizinalassistent tätig.

B. Ladewig · Dissertationsdruck · 1 Berlin 12 · Pestalozzistr. 105 · Tel. 318885